



## FITOTOXICIDAD DEL CROMO SOBRE *Phaseolus vulgaris* L.

Ernesto Benito Giardina<sup>1</sup>; O.S. Heredia<sup>1</sup>; M.A. Castro <sup>†1</sup> y Diana N. Effron<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Cátedra de Edafología, Fac. de Agronomía, UBA. <sup>2</sup>Cátedra de Química General, Fac. de Agronomía, UBA  
giardina@agro.uba.ar

Recibido: 22-12-11  
Aceptado: 16-02-12

NOTA

### RESUMEN

La contaminación con metales pesados y los problemas que estos generan sobre la biota han sido muy documentados. El cromo es un metal pesado que no se halla libre en la naturaleza, pero si combinado. Es importante determinar el nivel de riesgo ambiental de los metales pesados sobre diversos representantes del ecosistema terrestre utilizando bioensayos ecotoxicológicos por lo que en este trabajo se planteó el siguiente objetivo: Evaluar el efecto de distintas concentraciones de cromo sobre el crecimiento de *Phaseolus vulgaris* L., lo que brindará no sólo información respecto de variaciones anatómicas sobre las especies ensayadas sino el grado de incorporación -dilución- en experimentos futuros. Dicho elemento en las plantas esta presente en concentraciones detectables pero no se conoce si es un nutriente esencial para la vida vegetal.

Se realizaron ensayos de germinación con dosis crecientes de cromo: 0 (control), de 0,000001; 0,00001; 0,0001; 0,001; 0,01; 0,1; 0,15; 0,2; 0,25; 0,5; 0,75; 1; 1,5 y 2 M, a partir de cromato de potasio estableciendo siete réplicas de semillas de *Phaseolus vulgaris* L. por tratamiento. Para el ensayo se utilizaron grupos de 4 semillas en recipientes plásticos teniendo como soporte papel de filtro. Para las concentraciones 0; 0,1; 0,75 y 2 M se realizó un ensayo en macetas con suelo y compost. Ambos ensayos se hicieron en bloques completamente al azar. Para evaluar el efecto de los tratamientos se realizó un ANVA y un test de comparación de medias.

Hubo germinación en la totalidad de las semillas de poroto a partir de la concentración  $10^{-2}$  M de cromo o sea a partir de los 520 mg L<sup>-1</sup>; un valor superior a los encontrados en la bibliografía. En el largo de radícula y largo de tallo hubo diferencias entre tratamientos y la dosis  $10^{-6}$  M podría ser promotora del crecimiento de ambos órganos. En las hojas no se encontraron diferencias en el ancho y largo de las mismas, por lo que puede presumirse que la traslocación del cromo a las mismas fue baja. El ensayo en macetas arrojó para las dosis evaluadas, que el suelo no tuvo un efecto amortiguador sobre la concentración del cromo cuando las semillas fueron imbibidas directamente en la solución ensayada.

**Palabras clave:** cromo, *Phaseolus vulgaris*, ensayos ecotoxicológicos

## PHITOTOXICITY OF CHROMIUM OVER *Phaseolus vulgaris* L.

### SUMMARY

Heavy metals contamination and the problems that these generate on the biota have been documented. Chromium is a heavy metal that is not free in nature. It is important determine the level of heavy metals environmental risk on diverse terrestrial ecosystem using ecotoxicological bioassays. The aims of this work is to evaluate the effect of different chromium concentrations on the growth of *Phaseolus vulgaris* L. That will not only offers information about anatomical variations on the species in study and will be usefull in future experiments. They carried out germination trial with increasing doses of Cr: 0 (control), of 0.000001; 0.00001; 0.0001; 0.001; 0.01; 0.1; 0.15; 0.2; 0.25; 0.5; 0.75; 1; 1.5; and 2 M, the Cr is applied as potassium chromate, by establishing 7 repetitions of *Phaseolus vulgaris* L. seeds for treatment. Groups of four seeds were used in plastic containers and put over filter paper in each replica. For 0; 0.1; 0.75 and 2 M concentrations we carried out a test in pots with soil and compost. Both test were carried out in a randomized design. ANVA analysis was made to evaluate the effect of treatments.

All the seeds germinated from concentrations of chromium over  $10^{-2}$  M equivalent to 520 mg L<sup>-1</sup>, this is a higher value that obtained in the bibliography. There were differences between treatments in the radicle and the stem length. The dose of  $10^{-6}$  M could be the promoter growth of these two organs. There were no difference between the width and length of the leaves, this shows that the traslocación of the chromium in leaves was low. In pots test the soil had not effect over Cr concentration and seeds have not germinated.

**Key words:** Chromium (VI), *Phaseolus vulgaris*, ecotoxicological bioassays.

Giardina, E.B.; Heredia, O.S.; Castro, M.A. y D.N. Effron. 2012. Fitotoxicidad del cromo sobre *Phaseolus vulgaris* L. *Rev. Agronomía & Ambiente* 32(1-2): 75-80. FA-UBA, Buenos Aires, Argentina.

## INTRODUCCIÓN

La contaminación con metales pesados y los problemas que estos generan sobre la biota han sido muy documentados (Meagher, 2000). Los ensayos de fitotoxicidad con semillas germinadas son simples, versátiles y útiles para evaluar la toxicidad de aguas, sedimentos y muestras de suelos (Rosa *et al.*, 2009).

El cromo es un metal pesado que no se halla libre en la naturaleza, pero si combinado. Es un elemento natural que esta presente en rocas, suelos, aguas, plantas y animales, el cromo trivalente, por ejemplo, es un mineral que se encuentra abundantemente en frutas, verduras, productos lácteos, carnes y, en un menor grado, la cerveza y el vino.

Existen referencias sobre el cromo, que indican que es un metal pesado que funciona químicamente con distintos estados de oxidación: bivalente, trivalente y hexavalente, siendo este último de gran importancia por su alto poder tóxico. El cromo (II) es inestable y se oxida rápidamente al cromo (III), que en los seres humanos promueve la acción de la insulina; el cromo metálico, o cromo (0), al carecer de actividad biológica y debido a su alta reactividad, no se encuentra libre en la naturaleza, mientras que los derivados del cromo (VI) (cromatos y dicromatos), usualmente son de origen antropogénico.

La principal fuente de contaminación con este metal son las curtiembres, donde las concentraciones de cromo (VI) de sus efluentes pueden variar entre 1 a 77 mg L<sup>-1</sup> del elemento (Aurazo de Zumaeta y Esparza, 1995).

En las plantas esta presente en concentraciones detectables pero no se conoce si es un nutriente esencial para la vida vegetal.

El cromo hexavalente en particular es un desnaturalizador de proteínas y precipitante de los ácidos nucleicos; además, es considerable la acción cancerígena de los cromatos sobre el pulmón y el aparato digestivo (Otiniano García *et al.*, 2007).

Es importante determinar el nivel de riesgo ambiental de los metales pesados sobre diversos representantes del ecosistema terrestre utilizando bioensayos ecotoxicológicos (Iannacone y Gutiérrez, 1999).

Las pruebas de germinación y elongación radicular son los ensayos de biomonitorio ambiental mas sencillos (Wang y Williamns, 1990).

El tratamiento con elevadas concentraciones de cromo puede provocar reducción en el crecimiento y productividad de las plantas relacionado con alteraciones nutricionales, tanto de absorción como de translocación de diversos elementos esenciales. Las bajas concentraciones de cromo provocan anomalías en el comportamiento de los parametros hidricos de las plantas tratadas con el mismo incrementando el potencial de turgencia, relacionado con una disminución en el modulo de elasticidad de la pared celular que a su vez se relaciona con un estímulo del crecimiento (Gunse Forcadell, 1987).

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de distintas concentraciones de cromo sobre la germinación y el crecimiento de *Phaseolus vulgaris* L.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Las semillas de *Phaseolus vulgaris* L. (poroto) fueron suministradas por una institución comercial. Se garantizaron condiciones óptimas de almacenamiento (bajas temperaturas y humedad relativa).

El ensayo se realizó en condiciones de laboratorio con un fotoperíodo de 24 horas de luz garantizado por lámparas de luz blanca de 40 watts; la temperatura se mantuvo estable 23±2 °C; la longitud del ensayo fue de 21 días.

El estudio se realizó según el protocolo 208 de la OECD (1984); la droga utilizada fue dicromato de potasio (K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>), grado analítico (99,9% de pureza), que fue disuelto en agua desmineralizada. Se utilizaron 15 concentraciones de cromo (VI) que fueron: 0 (control), 0,000001; 0,00001; 0,0001; 0,001; 0,01; 0,1; 0,15; 0,2; 0,25; 0,5; 0,75; 1; 1,5 y 2 M, estableciendo 7 réplicas por tratamiento.

Para el ensayo se utilizaron grupos de 4 semillas en recipientes plásticos teniendo como soporte papel de filtro.

Luego de 1 semana desde la fecha de siembra, se observó si la semilla germinó o no, y al cabo de 3 semanas en el caso de las germinadas se midió longitud de tallo y radícula, ancho y largo de las hojas basales.

Además, se realizó un ensayo en macetas eligiendo las siguientes concentraciones: 0; 0,1; 0,75 y 2 M que respondían a las dosis donde hubo emergencia. Las semillas de poroto se imbibieron durante 24 horas en la solución de la concentración ensayada y luego se sembraron en macetas de polipropileno en dos medios, el suelo de la huerta orgánica de la FAUBA y un compost utilizado rutinariamente en la misma. Se realizaron 5 repeticiones de cada tratamiento con 2 semillas en cada repetición. Se mantuvo a ambos medios a capacidad de campo, siendo el valor de humedad a capacidad de campo del suelo de 20,8%, mientras que el del compost de 52,7%.

El diseño en ambos experimentos fue en bloques completos al azar, para analizar el efecto de la dosis en dos sustratos, suelo y compost.

Los resultados obtenidos se analizaron estadísticamente con un análisis de varianza y un test de comparación de medias (LSD) con el programa Statistix 7.0.

## RESULTADOS

### Germinación de semillas

En los tratamientos de  $2 \times 10^{-1}$  M no hubo germinación de las semillas de poroto, comenzando la misma a partir de la concentración 0,01 M de cromo (VI), o sea a partir de los  $520 \text{ mg L}^{-1}$ ; un valor superior a los encontrados en la bibliografía.

### Largo de radícula

El efecto del cromo, evaluado solo en los casos donde hubo germinación, demostro que no hay grandes variaciones en cuanto a la elongación radicular del testigo con respecto a las concentraciones 0,01 a 0,0001 M incrementandose la misma entre  $10^{-5}$  y  $10^{-6}$  M (Fig. 1).

Con el ANVA se encontro que existieron diferencias entre tratamientos ( $p < 0,03$ ) que analizados por el test LSD, muestra que el control es el que presenta mayor largo de radícula, y  $10^{-5}$  M, el menor valor. Los coeficientes de variación fueron altos variando de 23 al 114%.

### Longitud de tallo

Como puede verse en la Figura 1 existe variación en el efecto del cromo sobre el crecimiento del tallo que tiene una tendencia semejante al

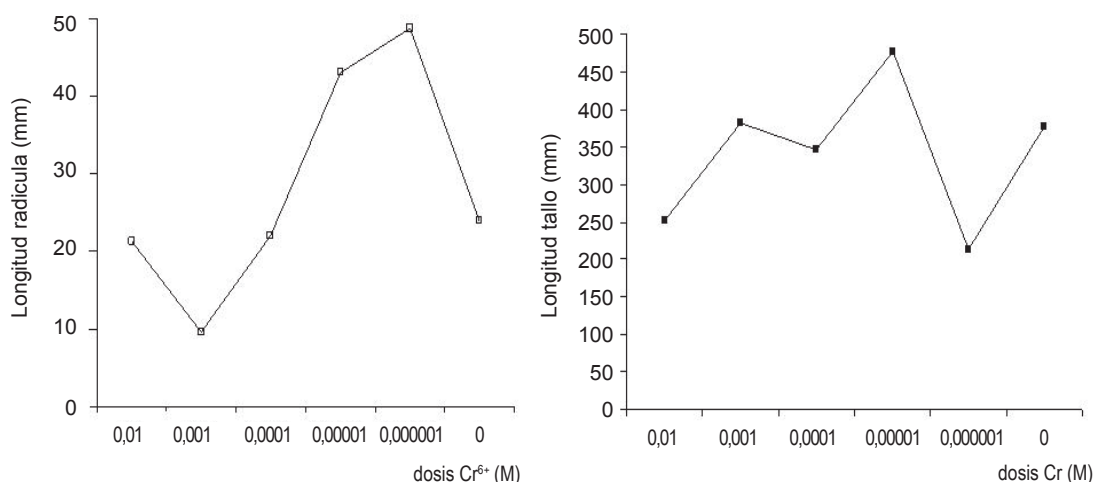


Figura 1: Efecto del cromo sobre el largo de raíz y tallo.

crecimiento de la radícula. A pesar de esto hubo diferencias entre los tratamientos ( $p < 0,05$ ), siendo el tratamiento de mayor longitud, el medido en el testigo, seguido por la dosis  $10^{-6}$  M, y el de menor longitud media fue la dosis  $10^{-5}$  M.

El comportamiento semejante entre el tallo y la radícula hace pensar en una partición homogénea entre ambos órganos.

#### Ancho y largo de hoja

En el caso del largo de hoja hubo mayor variación entre tratamientos que en el caso de ancho de las mismas.

Para el largo de hojas el CV fue de 2,8 a 44% y no hubo diferencias de las medias entre tratamientos. Para el ancho de hojas el CV fue de 12 al 36% y en este caso la dosis  $10^{-2}$  M fue la que se diferencio significativamente de los otros tratamientos (Fig. 2).

En las hojas no se encontraron diferencias en el ancho y largo de las mismas, por lo que puede presumirse que la traslocación del cromo a las mismas fue baja.

En estos órganos la variación dentro de los tratamientos fue menor que en el caso de largo de

radícula y tallo que presentaron mayor variabilidad, lo que podría indicar mayor sensibilidad de estos órganos al tóxico.

#### Ensayo en macetas

En ambos casos hubo germinación y posterior desarrollo en los testigos, sin que haya diferencias entre el suelo y el compost. En el caso de las semillas imbibidas con cromo, no germinaron en ningún caso.

Todos los testigos presentaron buen desarrollo, alcanzando a las 3 semanas de la siembra una altura de 20 a 25 cm, y a la cuarta semana ya se encontraban en segunda hoja trifoliada. Se observaba que las raíces de los testigos germinados alcanzaron rápidamente el fondo de la maceta de 1 litro de capacidad.

#### DISCUSIÓN

Mendez *et al.* (2009), encontraron que los estudios de crecimiento radicular de plantas superiores vasculares son mas importantes que los de germinación debido a que son menos variables.

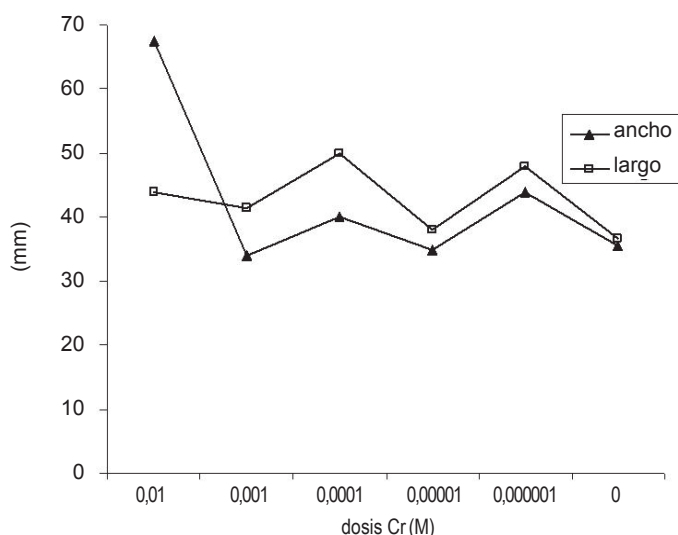


Figura 2: Efecto del cromo sobre el crecimiento de la hoja de *Phaseolus vulgaris* L.

En este trabajo se encontró que en dosis mayores a  $520 \text{ mg L}^{-1}$  no hubo germinación, habiéndola a dosis menores. Aportella Gilling y Pérez (2001), trabajando con semillas de lechuga en concentraciones de 0 a  $100 \text{ mg kg}^{-1}$ , observaron un retardo en la germinación de las semillas, y que el dicromato de potasio provocó retardo en la emergencia y variaciones entre las plantas de un mismo tratamiento, de manera proporcional con el aumento de la concentración.

En un trabajo realizado por Aurazo y Esparza (1995), se encontró que el cromo (VI) afecta el crecimiento radicular de *Allium cepa* L, donde en concentraciones de  $1 \text{ mg L}^{-1}$  se inhibe el crecimiento en un 25%; entre 5 y  $70 \text{ mg L}^{-1}$ , se inhibe del 85 al 75% del crecimiento, y en valores superiores a  $70 \text{ mg L}^{-1}$  se inhibe totalmente el crecimiento de la raíz.

Podría pensarse en un efecto estimulador del cromo a bajas concentraciones; esto puede verse a partir de la concentración  $10^{-6} \text{ M}$  para tallo y radícula no así para ancho y largo de hoja, por lo que estos resultados no son concluyentes. En un trabajo de Giardina *et al.* (2010) se comprobó trabajando con lechuga, tomate y rabanito que las concentraciones de 0,01 y 0,001 mM resultaron promotores del crecimiento de las tres especies.

Con respecto a la promoción del crecimiento hay autores que dicen que concentraciones de  $5 \text{ mg L}^{-1}$  producirían mayor crecimiento radicular que el control; que  $10 \text{ mg L}^{-1}$  de cromo reduciría la germinación, y más de  $40 \text{ mg L}^{-1}$  permitiría la germinación del 50% de las semillas, pero las plantas morirían en las semanas siguientes al mismo (Peralta *et al.*, 2001). En nuestro ensayo estas concentraciones se alcanzarían con concentraciones cercanas a la  $10^{-4}$  a  $10^{-3} \text{ M}$ ; esto podría explicar la variabilidad de los resultados obtenidos.

Otros autores encuentran que la concentración en la cual se reduce la emergencia con respecto al grupo control ( $CL_{50}$ ) estaría determinada a  $18,36 \text{ mg L}^{-1}$  de cromo (VI) (Gilling y Pérez, 2001), lo que estaría contemplado entre las dos concentraciones citadas previamente.

Al igual que lo encontrado por Huffman and Alloway (1973), el cromo permanecería principalmente en la raíces siendo poco traslocado a las hojas.

La no emergencia de las plantas de poroto en el ensayo de macetas permitiría suponer que el efecto sobre la germinación se debió más a la imbibición previa de la semilla y no al sustrato utilizado, ya que el mismo no llega a revertir esta situación por dilución del cromo presente sobre la semilla.

No existe un número importante de trabajos de toxicidad por cromo en plantas vasculares y la información es dispersa y discontinua por lo que este trabajo intenta ser un aporte más. Al igual que lo encontrado por Huffman and Alloway (1973), el cromo permanecería principalmente en la raíces siendo poco traslocado a las hojas en los estudios de fitotoxicidad en el país.

## CONCLUSIONES

Hubo germinación en la totalidad de las semillas de poroto a partir de la concentración  $10^{-2} \text{ M}$  de cromo (VI), o sea a partir de los  $520 \text{ mg L}^{-1}$ ; un valor superior a los encontrados en la bibliografía.

En el largo de radícula y largo de tallo hubo diferencias estadísticas entre tratamientos y la dosis  $10^{-6} \text{ M}$  podría ser promotora del crecimiento de ambos órganos.

En las hojas no se encontraron diferencias en el ancho y largo de las mismas, por lo que puede presumirse que la traslocación del cromo a las mismas fue baja.

El ensayo en macetas arrojó para las dosis evaluadas, que el suelo no tuvo un efecto regulador o amortiguador sobre la concentración del cromo, cuando las semillas fueron imbibidas directamente en la solución ensayada.

## Agradecimientos

Este trabajo fue financiado por el proyecto UBACyT 20020090200140 y se agradece la colaboración del señor Daniel Dicrisio por su participación en una etapa del mismo.

## BIBLIOGRAFÍA

- Aportela Gilling, P.L. y Y. González Pérez. 200.1 Evaluación toxicológica del dicromato de potasio en plantas de lechuga, *Lactuca sativa* L. Anuario Toxicología 2001(1): 98-103.
- Aurazo de Zumaeta, M. y M.L. Esparza. 1995. Toxicidad aguda del cromo usando *Allium cepa* L. OPS/CEPIS/95-25(LAB). 23pp.
- Giardina, E.B.; O.S. Heredia; J. Chirkes; L. Ciuffoli y M. Auger. 2010. Valoración de la toxicidad del cromo sobre la germinación y el crecimiento de distintas especies de importancia hortícola. Congreso SETAC: 24.
- Gunse Forcadell, B. 1987. Efecto del cromo sobre la nutrición y las relaciones hídricas de *Phaseolus vulgaris* L. Tesis doctoral, Universidad Autónoma de Barcelona, España, 209pp.
- Huffman, E.W.D. and W.H. Alloway. 1973. Growth of plants in solution culture containing low levels of chromium. *Plant Phisisl.*, 52 : 72-75.
- Iannacone, O.J. y F.A. Alvaríño. 2005 Efecto Ecotoxicológico de tres Metales Pesados Sobre el Crecimiento Radicular de Cuatro Plantas Vasculares. *Agric. Técnica* vol 65(2): 198-203.
- Judith, P.M.; C.A. González Ramírez; A.D. Román Gutiérrez y F. Prieto García. 2009. Contaminación y Fototoxicidad en plantas por metales pesados provenientes de suelos y agua. *Tropical and Subtropical Agroecosystems* 10: 29-44.
- Meagher, R.B. 2000. Phytoremediation of toxic elemental and organic pollutants. *Curr. Opin Plant Biol.*, 3: 153-162.
- OECD, 1984. Terrestrial plant: Growth test OECD. Guideline for chemicals N° 208. Organization for Economic Cooperation and Development, Paris.
- Otiniano García, M.; L. Tuesta Collantes; H. Robles Castillo; M. Luján Velásquez y M. Chávez Castillo. 2007. Biorremediación de cromo VI de aguas residuales de curtiembres por *Pseudomonas* sp y su efecto sobre el ciclo celular de *Allium cepa*. *Rev. Med. Vallejiana* v.4 (1) Lima: 32-42.
- Peralta J.R.; J.L. Gardea-Torresdey; K.J. Tiemann; E. Gómez; S. Arteaga; E. Rasscon and J.G. Parsons. 2001. Uptake and effects of five heavy metals on seed germination and plant growth in Alfalfa (*Medicago sativa* L.).
- Rosa, C.E.V.; M. Sierra and C.M. Radetski. 1999. Use of plant test in the evaluation of textile effluent toxicity. *Ecotoxicology Environmental Research* 2 : 56-61.
- Wang, W. and J.M. Williams. 1990. The use of phytotoxicity test (common dockweed, cabbage, and millet) for determining effluent toxicity. *Environ. Monit. Assess.* 14: 45-58.